

ANALISA KADAR PROTEIN CRUDE ENZIM SELULASE DARI KAPANG *Rhizopus Sp* PADA SUBSTRAT AMPAS TEBU HASIL ISOLASI DARI KEBUN CENGKEH, KARE, MADIUN

Pujiati^{1*}, Ani Sulistyarsi¹, Muh. Waskito Ardhi¹

¹Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas PMIPA, IKIP PGRI Madiun Madiun, 63118, Indonesia

*email: poesky86@gmail.com

ABSTRAK

Kapang *Rhizopus sp* merupakan salah satu mikroorganisme yang memiliki kemampuan tinggi untuk menghasilkan enzim selulase. Enzim selulase merupakan enzim yang dapat menghidrolisis selulosa. Hidrolisis meliputi proses pemecahan polisakarida di dalam biomassa lignoselulosa, yaitu: selulosa dan hemiselulosa menjadi monomer gula penyusunnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui produksi dan aktivitas enzim selulase terhadap aktivitas *crude* enzim selulase dari kapang *Rhizopus sp* dengan substrat ampas tebu (*bagase*). Metode penelitian menggunakan kuantitatif eksperimen dengan pola rancangan acak lengkap (RAL) dua faktorial. Perlakuan penelitian meliputi perbedaan inokulum (K) yaitu 5% (K₁), 15% (K₂), 25% (K₃) dan lama fermentasi (T) yaitu 3 hari (T₁), 6 hari (T₂), 9 hari (T₃), dan 12 hari (T₄). Data yang diambil dari perlakuan tersebut adalah kadar protein dengan metode *brownstead lowry*. Analisis data menggunakan variansi anava dua jalur dengan taraf signifikansi 5% setelah itu dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT). Hasil penelitian menunjukkan bahwa: $F_{hit} > F_{tab}$ sehingga ada pengaruh antara konsentrasi inokulum dan lama fermentasi terhadap aktivitas *crude* enzim selulase dari kapang *Rhizopus sp*. Perlakuan perbedaan konsentrasi dan lama fermentasi mendapatkan kadar protein tertinggi 0,715 dengan konsentrasi 25% dan lama fermentasi 25%.

Kata Kunci: *Rhizopus sp*; Ampas Tebu; Aktivitas; Selulase.

PENDAHULUAN

Tanah hutan yang dipenuhi guguran daun dan ranting-ranting membuat tanahnya subur. Tanah yang subur akibat dekomposisi dan penguraian daun beserta ranting-ranting oleh mikroorganisme menjadi unsur hara yang diperlukan oleh tumbuhan. Tanah yang subur diindikasikan populasi mikroorganisme melimpah karena banyaknya sumber energi dari reduksi senyawa-senyawa organik yang dibutuhkan oleh mikroorganisme tersebut.

Di kebun cengkeh ditemukan kapang dari beberapa genus diantaranya kapang *Penicillium*, kapang *Aspergillus*, kapang *Trichoderma*, dan kapang *Rizhopus*. Spesies kapang dari genus *Rizhopus* yang belum dieksplorasi potensinya dari kebun cengkeh Kare kabupaten Madiun adalah *Rizhopus sp*, sehingga perlu diadakan penelitian untuk mengetahui potensi *Rizhopus sp* dari tanah kebun cengkeh yang belum diketahui oleh masyarakat khususnya mahasiswa.

Produksi enzim selulase dalam skala industri membutuhkan biaya produksi tinggi sehingga enzim yang dihasilkan mahal, untuk mengatasi masalah dalam produksi enzim digunakan substrat

dari limbah pertanian. Menurut Puspita, 2013: 22 dalam Sesotyaningrum, 2014:2) menyatakan produksi enzim memerlukan substrat yang biasanya berasal dari bahan berpati maupun berselulosa. Ampas tebu atau lazimnya disebut bagas, adalah hasil samping dari proses ekstraksi (pemerahan) cairan tebu.

Pada umumnya, pabrik gula di Indonesia memanfaatkan ampas tebu sebagai bahan bakar bagi pabrik yang bersangkutan setelah ampas tebu tersebut mengalami pengeringan. Disamping untuk bahan bakar, ampas tebu juga banyak digunakan sebagai bahan baku pada industri kertas. Dari limbah pertanian tersebut dapat dijadikan substrat dalam pembuatan enzim selulase karena mengandung selulosa.

Enzim selulase merupakan enzim yang digunakan untuk menghidrolisis selulosa yang banyak dimanfaatkan dalam berbagai industri. Enzim selulase umumnya digunakan dalam berbagai industri seperti bioteknologi makanan, tekstil, pakan ternak, kertas, dan pertanian (Sinatari, Aminin, Sarjono 2013:131). Banyaknya kebutuhan akan enzim selulase dalam berbagai bidang industri meningkatkan minat para peneliti untuk mencari

formula terbaik dalam menghasilkan enzim selulase ini.

Ampas tebu merupakan bahan berbasis lignoselulosa memiliki substrat yang cukup kompleks karena didalamnya terkandung lignin, polisakarida, zat ekstraktif, dan senyawa organik lainnya. Dari seluruh perkebunan tebu yang ada di Indonesia, 50% di antaranya adalah perkebunan rakyat, 30% perkebunan swasta, dan hanya 20% perkebunan negara. Pada tahun 2004 produksi gula Indonesia mencapai 2.051.000 ton (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2007 dalam Ganjar, 2011:180). Ampas tebu, atau disebut juga dengan bagas, adalah hasil samping dari proses ekstraksi cairan tebu. Ampas tebu sebagian besar mengandung ligno-cellulosa. Serat bagas tidak dapat larut dalam air dan sebagian besar terdiri dari selulosa, pentosan, dan lignin.

Formulasi enzim yang optimal dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor. Antara lain: konsentrasi inokulum, lama inkubasi, jenis substrat, nutrisi, pH, kelembaban.

Penelitian ini menggunakan variasi konsentrasi inokulum *Rizhopus sp* dan lama inkubasi untuk mendapatkan produk enzim dengan aktivitas optimal yang di peroleh dengan menganalisa kadar protein dari crude enzim yang diperoleh.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Erlenmeyer, sentrifuge, pipet tetes, kertas saring, aluminium foil, tip, spatula kaca, ose, bunsen, pipet volume, autoclave, tabung reaksi, shaker, kertas label, gelas ukur, pipet mikro, kapas, cawan petri, wrapping plastic, botol kaca, timbangan digital, kompor listrik, beakerphyrex, tissue, spektrofotometer.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: PDA (*Potato Dextrose Agar*); akuades; alkohol 70%; NaOH 6%; amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) 10 g/L; urea (CO(NH₂)₂) 3 g/L; kalium dihidrogen fosfat (KH₂PO₄) 3 g/L; magnesium sulfat heptahidrat (MgSO₄·7H₂O) 0,5 g/L; kalsium klorida monohidrat (KCl) 0,5 g/L; substrat ampas tebu; *Rhizopus sp* hasil isolasi dari kebun cengkeh, Kare, Madiun.

Prosedur Penelitian

a. Pembuatan larutan nutrisi

Melarutkan urea (3g/L), (NH₄)₂SO₄ (10g/L), KH₂PO₄ (3g/L), MgSO₄·7H₂O (0,5g/L), CaCl₂·H₂O (0,5g/L) dengan akuades dalam erlenmeyer.

b. Pembuatan Kultur *Rhizopus sp*

Kapang *Rhizopus sp* yang sudah tumbuh di tabung reaksi menggunakan pipet mikro kemudian dimasukkan kedalam botol berisikan air fisiologis 300 ml yang sudah disterilkan. Botol ditutup menggunakan kapas dan aluminium foil dan disimpan selama 3 hari dengan suhu 30°C.

c. Produksi enzim selulase

Tahap produksi enzim yakni dengan memasukkan larutan nutrisi dan penambahan substrat Bagase (Ampas tebu). Starter kapang *Rhizopus sp* diinokulasikan pada media tersebut dengan konsentrasi 5% (K₁), 15% (K₂), 25% (K₃) dan diinkubasi dengan lama inkubasi 3, 6, 9 dan 12 hari.

d. Ekstraksi enzim

Ekstraksi enzim dilakukan dengan cara menambahkan larutan pengeksrak kultur yang telah diinkubasi. Kemudian disentrifuge untuk menghasilkan filtrat enzim kasar. Ekstrak enzim kasar ini digunakan untuk analisa kadar protein.

e. Penentuan kadar protein

Penentuan total protein sampel:

$$\text{Albumin pada cuplikan sampel (x)} = \frac{\text{absorbansi} - 0,0116}{0,0052}$$

$$\text{Albumin pada sampel (g/100 ml)} = \frac{\text{x}}{\text{bobot sampel} \times 1000/10} \times \text{fp} \times 100\%$$

Keterangan:

fp: faktor pengenceran, fp=1 (tanpa pengenceran)

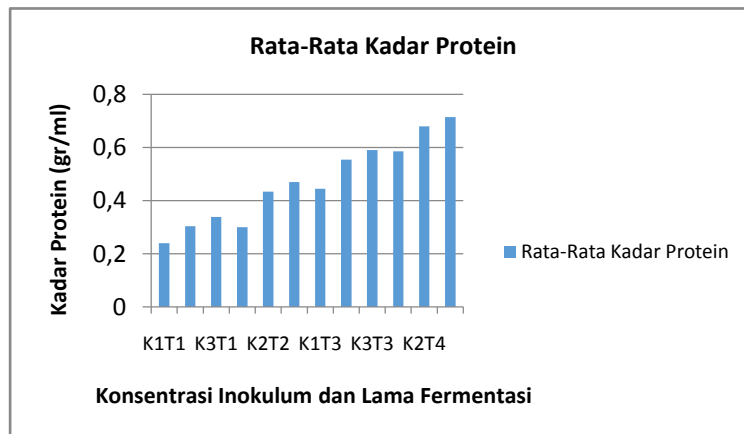
Analisis data untuk mengetahui produksi dan uji aktivitas enzim selulase dari kapang *Rhizopus sp* dari substrat Bagase (ampas tebu) yaitu dihitung dengan menggunakan SPSS versi 16.0. Untuk mengetahui signifikan atau tidak nya produksi dan uji aktivitas enzim selulase kapang *Rhizopus sp* pada substrat ampas tebu digunakan statistik anava dua jalur dilanjutkan dengan uji LSD.

HASIL DAN PEMBAHASAN

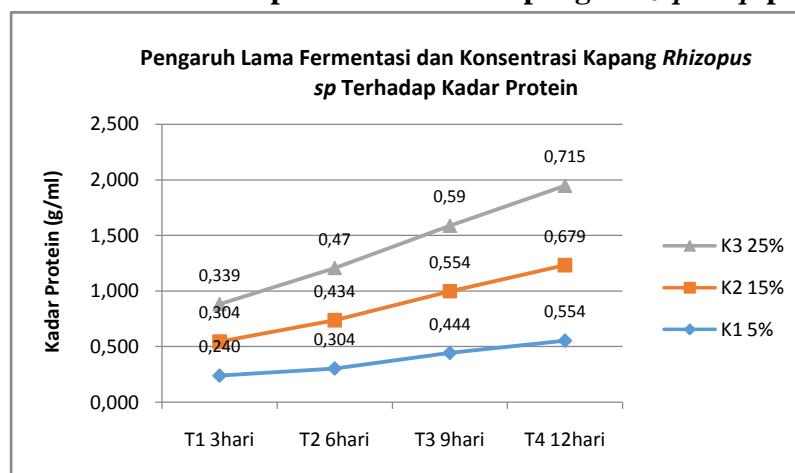
Hasil analisis penelitian menunjukkan bahwa dengan perlakuan lama konsentrasi inokulum dan lama terhadap kadar gula reduksi dan kadar protein dari aktifitas crude enzim kapang *Rhizopus sp* memiliki perbedaan yang signifikan sebesar 0,00 < 0,05 dengan taraf signifikan 95%. Berdasarkan Tabel 4.1 data hasil pengujian kadar gula reduksi kapang *Rhizopus sp* menunjukkan bahwa konsentrasi inokulum dan lama fermentasi mempengaruhi produktivitas crude enzim selulase yang dihasilkan oleh kapang *Rhizopus sp* yang diukur dengan prosentase kadar protein. Berikut disajikan grafik pengaruh lama fermentasi dan

konsentrasi kapang *Rhizopus sp* pada substrat ampas tebu terhadap kadar protein dapat dilihat pada

gambar 1.



Gambar 1. Histogram rata-rata kadar protein reduksi kapang *Rhizopus sp* pada crude enzim selulase



Gambar 2. pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi kapang *Rhizopus sp* pada substrat ampas tebu terhadap kadar protein

Tabel 1. Tabel Uji LSD Kadar Gula Reduksi *Crude Enzim Selulase Kapang Rhizopus sp Terhadap Pengaruh Lama Fermentasi*

Dependent Variable: Protein total					
LSD					
(I) Lama Fermentasi	(J) Lama Fermentasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval Lower Bound
T1	T2	-,1067*	,00439	,000	-,1162
	T3	-,2350*	,00439	,000	-,2446
	T4	-,3650*	,00439	,000	-,3746
T2	T1	,1067*	,00439	,000	,0971
	T3	-,1283*	,00439	,000	-,1379
	T4	-,2583*	,00439	,000	-,2679
T3	T1	,2350*	,00439	,000	,2254
	T2	,1283*	,00439	,000	,1188
	T4	-,1300*	,00439	,000	-,1396
T4	T1	,3650*	,00439	,000	,3554
	T2	,2583*	,00439	,000	,2488
	T3	,1300*	,00439	,000	,1204

Tabel 2. Tabel Uji LSD Kadar Gula Reduksi *Crude Enzim Selulase Kapang Rhizopus sp Terhadap Pengaruh Lama Fermentasi*

Dependent Variable: Protein total		
LSD		
(I) Lama fermentasi	(J) Lama fermentasi	95% Confidence Interval

		Upper Bound
T1	T2	-,0971*
	T3	-,2254*
	T4	-,3554*
T2	T1	,1162*
	T3	-,1188*
	T4	-,2488*
T3	T1	,2446*
	T2	,1379*
	T4	-,1204*
T4	T1	,3746*
	T2	,2679*
	T3	,1396*

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = 5,775E-005.

*. The mean difference is significant at the ,05 level.

Berdasarkan gambar 1 dan 2 dapat dilihat bahwa rata-rata kadar protein tertinggi pada K₃T₄ (konsentrasi inokulum 25% dan lama fermentasi 12 hari) dengan rata-rata kadar protein 0,715 gr/ml dan kadar terendah pada K₁T₁ (konsentrasi 5% dan lama fermentasi 3 hari) dengan rata-rata kadar protein yaitu sebesar 0,24 gr/ml.

Bila dikaitkan dengan tabel sidik ragam konsentrasi inokulum mempengaruhi kadar protein yang dihasilkan kapang selulolitik dengan menggunakan substrat ampas tebu, dengan kadar tertinggi pada K₃ (Konsentrasi 25%). Menurut Septiningrum (dalam Suciningtias, 2014: 39) jika jumlah inokulum lebih besar dari 10% maka akan terjadi kompetisi jamur untuk mendapatkan nutrisi didalam proses fermentasi akibatnya biomassa yang terbentuk tidak maksimum sehingga produksi selulase menjadi berkurang. Pada konsentrasi 15% mengalami penurunan, hal ini disebabkan masa optimum kapang *Rhizopus sp* telah mencapai nilai maksimal dan juga dipengaruhi oleh substrat yang digunakan tidak mengalami pengayakan dengan baik sehingga mikroorganisme tersebut sulit untuk melakukan hidrolisis. Kadar protein tertinggi pada T₄ (lama fermentasi 12 hari). Hasil penelitian ini sejalan dengan pernyataan Zulfatus Sa'adah (dalam Suciningtias, 2014: 38) yang menyatakan dengan bertambahnya waktu konsentrasi protein menjadi tinggi, hal ini disebabkan pada waktu tersebut pertumbuhan mikroba telah mencapai maksimal. Meningkatnya kadar protein menunjukkan bahwa aktivitas selulase juga meningkat. Semakin lama waktu fermentasi maka kadar protein terlarut yang dihasilkan cenderung meningkat.

Kadar protein tertinggi yaitu K₃T₄ (konsentrasi 25% dan lama fermentasi 12 hari). Kadar protein kapang *Rhizopus sp* yang cukup tinggi pada hari ke 12 dengan rata-rata 0,715.

Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian Ida Bagus Wayan (dalam Suciningtias, 2014: 39) yang menyatakan pada kondisi lingkungan dengan kadar protein yang dihasilkan tinggi maka aktivitas enzim juga tinggi, dan sebaliknya pada kondisi bila kadar protein yang dihasilkan rendah maka terlihat adanya aktivitas enzim yang dihasilkan rendah.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa. Ada pengaruh perbedaan konsentrasi inokulum dan lama inkubasi terhadap kadar protein crude enzim selulase dari kapang *Rhizopus sp*. pada K₃T₄ (konsentrasi inokulum 25% dan lama fermentasi 12 hari) dengan rata-rata kadar protein 0,715 gr/ml dan kadar terendah pada K₁T₁ (konsentrasi 5% dan lama fermentasi 3 hari) dengan rata-rata kadar protein yaitu sebesar 0,240 gr/ml.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Allita Yosephine, Victor Gala., Aning A., Ery Susiany R. Pemanfaatan Ampas Tebu dan Kulit Pisang Dalam Pembuatan Kertas Serat Campuran. (Online), (<http://jurnal.Teknik Kimia Indonesia, vol.2, No 2, 2012, 94-100>). Diakses 2 juli 2016 jam 09:30.
- [2] Dwidjoseputro, D. 2003. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Jakarta: Penerbit Djambatan.
- [3] Ganjar Andika, 2011. Hidrolisis Ampas Tebu Menjadi Furfural Dengan Katalis Asam Sulfat. (Online), (<http://Jurnal Teknologi Volume 4 nomor 2, Desember 2011, 180-80>).
- [4] Ida, Bagus W., Wayan, Redi., Dan Ida, Bagus N. 2011. Produksi Selulase Kasar Dari Kapang *Trichoderma Viride* Dengan Perlakuan Konsentrasi Substrat Ampas Tebu Dan Lama Fermentasi. Jurnal Biologi No.2 Hal: 29-33. Diunduh tanggal 23 maret 2016.

- [5] Mutiara, 2012. Potensi kapang *aspergillus* sp. Dalam proses hidrolisis untuk produksi etanol dari Sampah sayur dan buah pasar wonokromo Surabaya. Diakses tanggal 26 juli 2014.
- [6] Selviza, Safaria., Nora, Idiawati., Dan Titin, Anita Zaharah. 2013. *Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari Aspergillus Niger Dan Trichoderma Reesei Dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa*. Volume 2 No. 1 Hal: 46-51. Diakses tanggal 20 juni jam 21:25.
- [7] Sinatari, dkk. 2013. Pemurnian Selulase Dari Isolasi Kb Kompos Termofilik Desa Bayat Klaten Menggunakan Amonium Sulfat. Chen Info (Online), Vol 1 No.1, (<http://portalgaruda.org>, Diunduh tanggal 29 maret 2016).
- [8] Subandi. 2010. Mikrobiologi Perkembangan, Kajian, Dan Pengamatan Dalam Perspektif Islam. Bandung: PT Remaja Rosdakarya.
- [9] Suciningtiyas D. D, 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Inokulum Dan Waktu Inkubasi Terhadap Produktivitas Crude Enzim Selase Kapang *Trichoderma* Sp Dengan Substrat Jerami Padi (*Oryza Sativa*) Sebagai Bahan Penyusun Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Bab Isolasi Kapang. Skripsi tidak diterbitkan. Madiun: PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI IKIP PGRI MADIUN.
- [10] Sugiyono. 2014. Metode Penelitian Kombinasi (Mixed Methods). Bandung: Alfabeta.
- [11] Sukma,2014. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus Niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat. BIOPROPAL INDUSTRI Vol. 5 No.2, Desember 2014.
- [12] Sesotyaningrum D.W, 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Inokulum dan Waktu Inkubasi Terhadap Produktivitas Crude Enzim Selase Kapang *Trichoderma* Sp Dengan Substrat Jerami Padi (*Oryza Sativa*) Sebagai Bahan Penyusun Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Bab Isolasi Kapang. Skripsi tidak diterbitkan. Madiun: PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI IKIP PGRI MADIUN.
- [13] Solikati W, 2014. Pengaruh Perbedaan Konsentrasi Inokulum Dan Lama Inkubasi Terhadap Aktivitas Crude Enzim Selulase Dari Kapang *Aspergillus Niger* Dengan Substrat Jerami Sebagai Bahan Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Materi Isolasi Mikroba. Skripsi tidak diterbitkan. Madiun: PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI IKIP PGRI MADIUN.
- [14] Villee, Claude A., Warren F. Walker, Jr., Robert D. Barnes. 1988. Zoologi Umum. Edisi Keenam. Terjemahan oleh Nawangsari Sugiri. Jakarta : Erlangga.
- [15] Waluyo. 2005. Mikrobiologi Umum. Malang: Penerbitan Universitas Muhamadiyah Malang.
- [16] _____. 2011. Mikrobiologi Umum Edisi Revisi. Malang: UPT. Penerbitan Universitas Muhamadiyah Malang.
- [17] Zulfatus Sa'adah, dkk. 2008. *Produksi Enzim Selulase oleh Aspergillus niger Menggunakan Substrat Jerami dengan Sistem Fermentasi Padat*. (Online), (<http://eprints.undip.ac.id>, Diunduh juni 2016).